

UNIVERSITÉ PARIS V
FACULTÉ DE MÉDECINE COCHIN PORT-ROYAL

ANNÉE 1970

N°

1971

THÈSE

POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE
(Diplôme d'Etat)

par

DUPIN-GIROD Sylvie, née NONAT

le 29 Avril 1946, à Valenciennes (Nord).

Externe des Hôpitaux de Paris.

Présentée et soutenue publiquement le 1971

ÉTUDE DE LA RÉACTION DE PRÉCIPITATION
ENTRE CERTAINS SÉRUMS HUMAINS
ET DES EXTRAITS SOLUBLES DE DIFFÉRENTS VÉGÉTAUX.

Président : Mr. B. KREIS, Professeur.

DUPUYTREN - COPY

9, Rue Dupuytren
PARIS (6°)

1970

UNIVERSITÉ PARIS V
FACULTÉ DE MÉDECINE COCHIN PORT-ROYAL

ANNÉE 1970

N°

THÈSE

POUR LE
DOCTORAT EN MÉDECINE
(Diplôme d'Etat)

par

DUPIN-GIROD Sylvie, née NONAT

le 29 Avril 1946, à Valenciennes (Nord).

Externe des Hôpitaux de Paris.

Présentée et soutenue publiquement le

**ÉTUDE DE LA RÉACTION DE PRÉCIPITATION
ENTRE CERTAINS SÉRUMS HUMAINS
ET DES EXTRAITS SOLUBLES DE DIFFÉRENTS VÉGÉTAUX.**

Président : Mr. B. KREIS, Professeur.

DUPUYTREN - COPY

9, Rue Dupuytren
PARIS (6°)

1970



A MON MARI

A MES PARENTS

A NOS DEUX FAMILLES

A MES AMIS

A MON MAÎTRE

Monsieur le Professeur B. K R E I S

qui m'a fait l'honneur de
me confier ce travail et
d'accepter la présidence
de cette thèse,

En témoignage de mon pro-
fond attachement.

Au Docteur A. PELTIER

qui m'a apporté son aide
précieuse en dirigeant
ce travail,

qu'il trouve ici l'expres-
sion de ma sincère grati-
tude.

A Mademoiselle Simone FOURNAUD

qui a fait la part la plus
importante de ces recher-
ches et a guidé mon appren-
tissage.

En remerciement de son ami-
cale collaboration.

A MES MAÎTRES D'EXTERNAT

Monsieur le Professeur MERLE d'AUBIGNÉ

Monsieur le Docteur GALLEY

Monsieur le Professeur BARIÉTY

Monsieur le Professeur KREIS

Monsieur le Docteur MAURICE

Monsieur le Docteur SALET

Monsieur le Professeur HEWITT

Monsieur le Professeur DEGOS

En témoignage de reconnaissance pour leur enseignement.

ÉTUDE DE LA RÉACTION DE PRÉCIPITATION

ENTRE CERTAINS SÉRUMS HUMAINS

ET DES EXTRAITS SOLUBLES DE DIFFÉRENTS VÉGÉTAUX

INTRODUCTION

Le mécanisme du tabac, responsable de la nocivité de celui-ci vis-à-vis de l'organisme humain, demeure totalement inconnu.

On a invoqué le rôle irritatif de la fumée de cigarettes, ainsi que la présence d'hydrocarbures qui, venant au contact des bronches, seraient responsables d'un grand nombre de cancers pulmonaires.

La mise en évidence dans le laboratoire de Monsieur le Professeur KREIS d'une réaction de précipitation se produisant entre 59,6 % de 671 sérums de sujets adultes compris entre 20 et 80 ans pris dans leur ensemble et un extrait soluble de tabac, nous conduit à nous demander si un mécanisme immunologique ne serait pas mis en jeu dans ces réactions, celui-ci étant peut-être à l'origine d'une réaction d'auto-défense de l'organisme vis-à-vis de cette substance qui lui est étrangère.

Les premiers résultats nous ont incitée à étendre notre étude à d'autres substances végétales avec lesquelles l'homme est en contact plus ou moins fréquemment. Les substances testées ont alors été les suivantes : la feuille de thé, la feuille de verveine, la feuille de café, le grain de café vert, le grain de café torréfié et enfin la feuille d'épinard.

P L A N

I - TITRE

II - INTRODUCTION et PLAN

III - MATERIELS ET METHODES.

A- Provenance des sérums.

B- Préparation des extraits.

C- Réaction de double diffusion en gélose
(Méthode d'Ouchterlony).

D- Immuno-électrophorèse : 1- directe,
2- renversée.

E- Précipitation de l'extrait par acide tri-
chloracétique et par acide perchlorique.

F- Ultrafiltration.

G- Courbe de précipitation (Tableau N° 1).

H- Réaction de déviation du complément.

I- Immunisation des lapins.

J- Intradermo-réaction.

IV - RESULTATS.

IV- RESULTATS.

1°)- Résultats d'ensemble.

A- Pourcentage des sérums donnant des réactions de précipitation avec les différents extraits (Tableau N° 2).

B- Corrélations entre les résultats des réactions de précipitation et les données cliniques.

a)- Age des sujets.

- Pourcentage des sérums donnant une réaction de précipitation avec l'extrait de tabac chez les adultes (Tableau 3a).

- Pourcentage des sérums donnant une réaction de précipitation avec l'extrait de tabac chez les enfants (Tableau 3b - Courbe 3c).

b)- Diagnostic clinique (Tableau N° 4).

c)- Consommation quotidienne de cigarettes (Tableau N° 5).

d)- Type de tabac utilisé (Tableau N° 6).

2°)- Caractérisation de cette réaction de précipitation.

1)- TABAC

A)- Analyse des résultats.

a)- Duchterlony :

- Etude de la position du trait de précipitation en fonction de la concentration d'extrait (Tableau N° 7).

- Etude quantitative des réactions

positives en fonction de la concentration de tabac (Tableau N° 8).

b)- Immuno-électrophorèse :

- Directe = I.E.D.

- Confrontation entre les résultats en Ouchterlony et I.E.D.

- Renversée : I.E.R.

- Tableau N° 9.

c)- Déviatation du complément.

d)- Courbe de précipitation.

e)- Propriétés physico-chimiques :

- Thermostabilité

- Précipitation par acide trichloracétique et perchlorique

- Dialyse

- Ultrafiltration.

f)- Immunisation des lapins :

- Ouchterlony

- I.E.D.

- I.E.R.

- Analyse physico-chimique.

g)- Intradermo-réaction.

- Tableau N° 10.

2)- THE²

A = a, b, c, e

Tableau N° 11

3)- MENTHE

A = a, b, d ; Tableau N° 12, e.

4)- FEUILLE DE CAFÉ

A = a, b, d ; Tableau N° 13, e.

5)- AUTRES VEGETAUX

3°)- Spécificité de cette réaction.

a)- Réaction d'identité.

b)- Absorption.

V - DISCUSSION.

VI - CONCLUSION.

VII - BIBLIOGRAPHIE.

MATÉRIELS ET MÉTHODES

A)- PROVENANCE DES SÉRUMS.

Les sérums humains viennent de malades hospitalisés dans la Clinique des Maladies respiratoires de Mr. le Professeur KREIS, pour la plus grande part. Un certain nombre venant d'enfants et de nourrissons hospitalisés à l'Hôpital Trousseau nous ont été confiés par le Dr. GRIMBACH.

Ces sérums ont été obtenus de façon standard : ponction veineuse, rétraction du caillot, centrifugation, conservation à 4° avec adjonction d'azoture de sodium (à raison de 2 gouttes d'azoture de Na à 5 % pour 5 ml de sérum).

B)- PRÉPARATION DES EXTRAITS.

Les extraits utilisés ont été préparés selon une méthode employée pour l'extraction d'allergènes.

La matière première est fournie par différentes préparations commerciales de feuilles de tabac (brins de tabac provenant de cigarettes de différentes marques et de tabac à pipe), de thé, de menthe, de verveine. L'extrait de feuille de café est obtenu à partir du végétal brut, importé du Viet-Nam et broyé après avoir été desséché. L'extrait de café vert et de café torréfié est obtenu à partir des grains broyés au préalable.

Ces diverses préparations sont dégraissées

vingt-quatre heures à l'éther sulfurique, puis, après décantation et évaporation de l'éther, une extraction phénolique est faite avec une solution de Coca (1) dans laquelle les broyats sont immergés huit jours (On ajoute 100 ml de solution de Coca à 10 g de poudre).

La phase aqueuse est filtrée sur papier, puis sur filtre Seitz, dialysée dix-huit heures contre l'eau du robinet et ensuite lyophilisée.

La poudre obtenue est conservée à 4°, puis dissoute à la demande dans de l'eau physiologique à la concentration désirée exprimée en milligrammes d'extraits par millilitre.

C)- REACTION de DOUBLE DIFFUSION EN GÉLOSE
(Méthode d'OUCHTERLONY)

- La gélose utilisée est préparée à partir d'Agar Difco Spécial Noble. 30 grammes d'Agar sont fondus au bain-marie à 100° dans 400 ml d'H₂O, refroidis à la température du laboratoire, coupés en petits cubes de 1 cm de côté qui sont lavés dans l'eau distillée pendant 3 jours. Les cubes de gélose sont fondus à nouveau dans le tampon désiré (tampon véronal pH 8,2 ou 7, 0,15 M), dans des conditions telles que la gélose ait une concentration finale de 2,5 % ou 1 %.

On a ainsi utilisé, soit de la gélose

E (pH 8,2 - concentration 2,5 %)

H (pH 7 - concentration 1,5 %).

Pendant cette préparation, on ajoute de l'azoture de Na à raison de 5 ml pour 1 litre de

(1) Solution de Coca :

(5 g de NaCl

(2,75 g de bicarbonate de Na

(4 g de phénol

(QSP 1 l.

gélose obtenue. La gélose est répartie dans des Erlenmeyer et gardée à 4°.

- Les extraits sont étudiés soit à des concentrations différentes de raison 1/2 en partant de 100 mg/ml, soit uniquement à 100 mg/ml pour comparer l'activité précipitante de différents végétaux vis-à-vis d'un même sérum dans une même boîte.

- Les boîtes d'Ouchterlony sont incubées huit jours en atmosphère humide, puis lavées à plusieurs reprises dans de l'eau physiologique et photographiées.

D)- IMMUNO-ELECTROPHORESSES.

Les I.E. ont été réalisées suivant la micro-méthode de SHEIDEGGER. Les géloses utilisées ont été les mêmes que pour les réactions d'Ouchterlony.

Deux dispositifs ont été utilisés : Immuno-électrophorèse directe et immuno-électrophorèse indirecte ou renversée.

1)- I.E. directe : Le réservoir central a été rempli avec l'extrait à étudier, puis l'électrophorèse a été effectuée à 200 mvols pendant 1 heure le plus souvent. Ensuite, le sérum précipitant en Ouchterlony est versé dans la gouttière centrale.

2)- I.E. renversé : Le réservoir central a été rempli avec un sérum précipitant en Ouchterlony ; l'électrophorèse a été effectuée à 200 mvols pendant 90 minutes. L'extrait à étudier est versé dans la gouttière longitudinale.

- Dans ces deux cas, le temps de précipitation immunologique a une durée de 24 heures. Puis, les lames sont lavées à plusieurs reprises dans de l'eau physiologique, colorées à l'amido Schwartz, relavées avant d'être photographiées.

E)- PRÉCIPITATION DE L'EXTRAIT
PAR ACIDE TRICHLORACÉTIQUE ET ACIDE PERCHLORIQUE.

- Pour la précipitation par l'acide trichloracétique, on ajoute à un volume d'extrait de tabac (à 50 mg par cc dissous dans l'eau physiologique) un volume égal d'acide trichloracétique à 5 %. Après une incubation de 30' à la température du laboratoire, les tubes sont centrifugés 30' à 5.000 tours/minute. Le culot obtenu, de couleur marron foncé, est lavé 4 fois, puis remis en suspension dans un volume d'eau physiologique égal au volume initial d'extrait de tabac.

- Pour la filtration par acide perchlorique, on mélange à parties égales l'extrait de tabac à 50 mg/ml et l'acide perchlorique à 3 %. Les tubes sont incubés à 37° pendant 30' et traités comme précédemment.

Dans d'autres expériences, on a varié la concentration de la solution des acides trichloracétique et perchlorique utilisés.

Dans tous les cas, l'analyse en Ouchterlony et I.E.D. du surnageant et du précipité redissous a pu être faite ultérieurement avec ou sans ultrafiltration.

F)- ULTRAFILTRATION.

Les expériences d'ultrafiltration ont été faites avec le système Amicon en utilisant des membranes de capacité variable.

D'abord XM 100, laissant passer les molécules de PM < 100.000, puis PM 30 et enfin UM 10, laissant passer respectivement les molécules de PM < 30.000 et à 10.000.

On effectue une analyse comparative et séquen-

H)- REACTIONS DE DÉVIATION DU COMPLÉMENT.

- Elles ont été faites en tubes dans un volume de 1,4 ml en mettant en présence 0,4 ml d'une dilution appropriée de sérum, 0,4 ml de la solution d'extract et 0,4 ml de sérum de cobaye normal dilué de façon à contenir 1,5 unité ou 2 unités hémolytiques, 100 % suivant les cas de complément.

- Les tubes ainsi préparés sont incubés à 37° pendant 60', puis on ajoute 0,2 ml de suspension d'hématies sensibilisées, à une concentration de $0,5 \times 10^{-9}$ hématies par ml. Après une incubation d'une heure à 37°, les tubes sont centrifugés et la richesse en hémoglobine du surnageant est appréciée par rapport à une gamme témoin.

Dans tous les cas, on s'assure, par des expériences préliminaires, que ni l'antigène ni l'immunsérum n'étaient anticomplémentaires aux concentrations utilisées.

I)- IMMUNISATION DE LAPINS.

Deux lapins ont été immunisés avec l'extract de tabac : chaque animal a d'abord reçu une injection sous chaque omoplate de 50 mg d'extract de tabac en émulsion dans l'adjuvant complet de Freund, puis, au bout de six semaines, une série d'injections faites toutes les 48 heures, par voie sous-cutanée abdominale d'extract de tabac en solution dans de l'eau physiologique (10 mg d'extract par injection); la dernière injection étant faite huit jours avant la saignée.

J)- INTRADERMO-RÉACTIONS.

L'extract pour intradermo-réaction est préparé à partir d'une dilution de tabac gauloise à 50 mg qui est précipité dans un volume égal d'acide trichloracétique à 2,5 % et ensuite centrifugé. Le sur-

nageant est dilué dans 100 fois son volume avec de l'eau physiologique. La dilution obtenue est ensuite concentrée sur membrane Amicon UM 10, filtrée au millipore ($0,45\ \mu$) et gardée en ampoules scellées au congélateur à -20° .

Les injections de 0,1 ml chacune sont faites en intradermique dans la région de l'avant-bras du patient à l'aide d'une seringue de Barthélemy. Les dilutions de la préparation au 1/10, 1/100, 1/1.000 et 1/10.000 sont faites juste avant leur emploi pour les intradermo-réactions.

Une intradermo-réaction témoin est faite avec de l'eau physiologique.

La lecture est appréciée à 15', 1 h., 3 h., 6 h., 12 h., 24 h. et 48 h., en mesurant la taille en millimètres de la papule, ainsi que celle de l'érythème annulaire.

R É S U L T A T S

1°) - RÉSULTATS D'ENSEMBLE.

A)- Pourcentage des sérums
donnant des réactions de précipitation
avec les différents extraits.

Les résultats sont consignés dans le tableau
 N° 2.

TABLEAU N° 2

EXTRAITS	NOMBRE DE CAS ETUDIÉS	NOMBRE DE CAS (+)	NOMBRE DE CAS DOUTEUX	%
Feuille de TABAC	285	151	1	53
Feuille de THE	285	201	4	72
Feuille de MENTHE	249	129	12	52
Feuille de VERVEINE	240	23	4	9,6
Grain de CAFE VERT	165	2	0	1,2
Feuille de CAFE	165	159	0	96

Grain de CAFE TORREFIE	90	0	0	0
Feuille d' EPINARD	66	0	0	0

Quatre des extraits ont donné des réactions positives avec plus de 50 % des sérums testés. Ce sont l'extrait de feuille de café (96 % de réaction positive de 165 sérums), l'extrait de feuille de thé (72 % de réaction positive de 285 sérums), l'extrait de feuille de tabac (53 % de réaction positive de 285 sérums) et l'extrait de feuille de menthe (52 % de réaction positive de 249 sérums).

D'autres extraits, par contre, n'ont donné que rarement des réactions positives. Ce sont l'extrait de feuille de verveine (9,6 % de réaction positive sur 240 sérums) et l'extrait de grain de café vert (1,2 % de réaction positive sur 165 sérums).

Enfin, deux extraits n'ont donné aucune réaction de précipitation. Ce sont l'extrait de grain de café torréfié (0 % de réaction positive sur 90 sérums) et l'extrait de feuille d'épinard (0 % de réaction positive de 66 sérums).

Un certain nombre de réactions ont été considérées comme douteuses : elles se caractérisaient par un trait de précipitation assez flou, mais cependant linéaire et symétrique par rapport à l'axe qui joint le réservoir de sérum à celui du réservoir d'extrait. Ces réactions sont notamment nombreuses pour l'extrait de feuille de menthe (5 % de 249 sérums).

B)- Corrélations entre les résultats
des réactions de précipitation et les données cliniques.

Nous avons pu étudier, pour l'extrait de feuille de tabac seulement, la relation qui existait entre le pourcentage de réactions positives et certains éléments tels que l'âge des sujets, le diagnostic clinique, la consommation quotidienne de tabac et le type de tabac fumé.

a)- Age des sujets.

Les résultats sont consignés dans les tableaux N° 3a et N° 3b.

- Il en ressort que les pourcentages de réactions positives varient peu entre 20 et 80 ans ; le pourcentage moyen de réactions positives est alors de 59,6 % pour 671 cas. Au-delà de 80 ans, le pourcentage est beaucoup plus faible puisqu'il n'est que de 17 % (Ce pourcentage est cependant de valeur discutable, puisqu'il ne concerne que 6 sérums).

- La fréquence des réactions positives varie, par contre, notablement entre la naissance et l'âge de 16 ans. A la naissance et pendant les premiers mois de la vie, 57 % des sérums de nourrissons donnent une réaction positive. Cette fréquence tombe à 14 % et 17 % dans les tranches d'âge allant respectivement de 3 mois à 12 mois et de 1 an à 4 ans, puis elle remonte à 37 % entre 4 et 16 ans et atteint peu à peu le niveau des adultes.

Les résultats du tableau 3-b sont rapportés sur la courbe N° 3-c en échelle semi-logarithmique.

TABEAU N° 3--a

Pourcentage des sérums
donnant une réaction de précipitation
avec l'extrait de tabac
en fonction de l'âge chez les adultes (677 sérums)

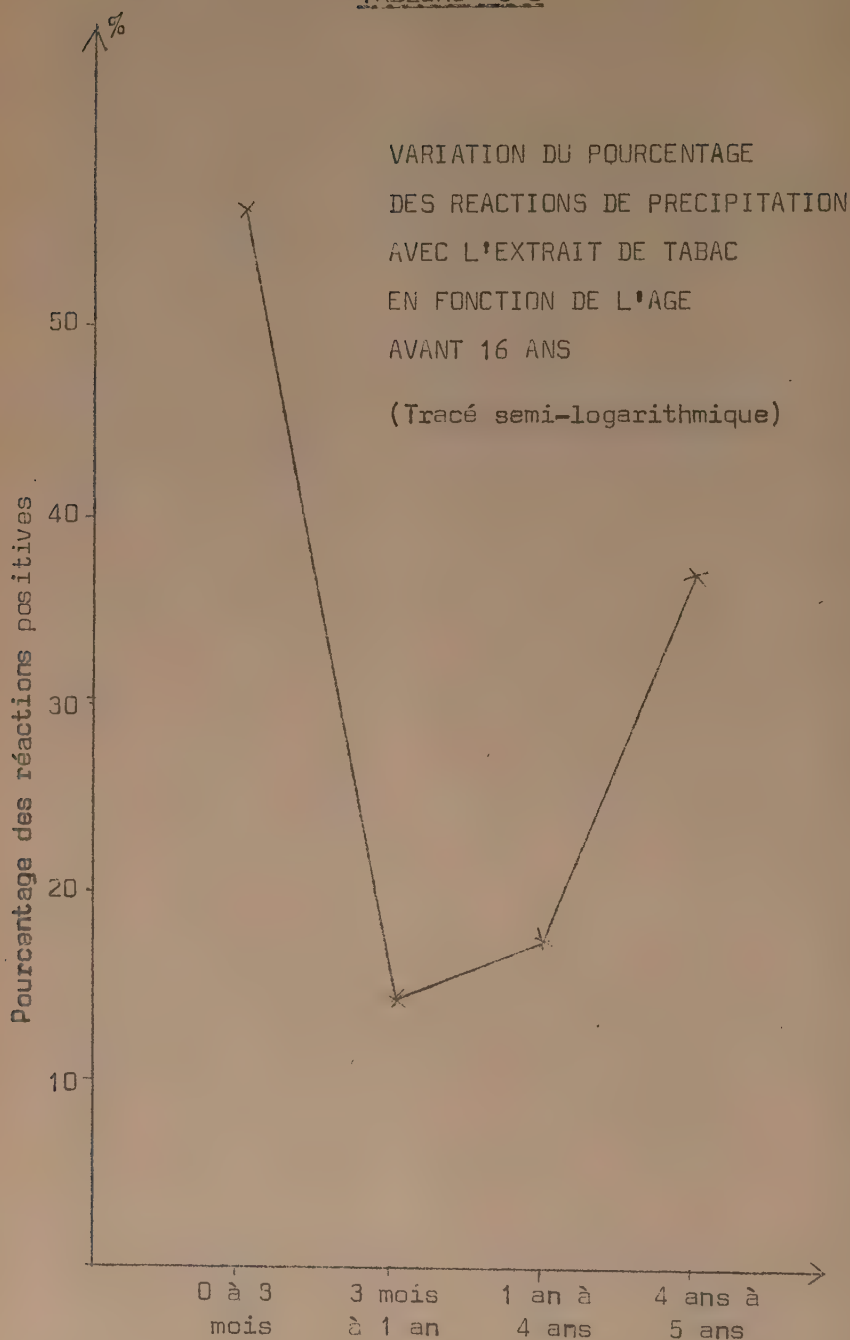
AGE	NOMBRE DE SÉRUMS	REACTIONS +	POURCENTAGE
20 à 29 ans	139	77	55,5
30 à 39 ans	132	76	57,5
40 à 49 ans	105	54	51,5
50 à 59 ans	93	65	70
60 à 69 ans	151	98	65
70 à 79 ans	51	33	65
80 ans et plus	6	1	17

TABLEAU N° 3-b

Pourcentage de sérums
 donnant une réaction de précipitation
 avec l'extrait de tabac
 en fonction de l'âge chez les enfants de 0 à 16 ans :
 (157 sérums)

AGE	NOMBRE DE SERUMS	CAS +	POURCENTAGE
0 à 3 mois	7	4	57
3 mois à 1 an	14	2	14,3
1 an à 4 ans	47	8	17
4 ans à 16 ans	91	34	37

TABEAU 3-c



b)- Diagnostic clinique.

Les résultats sont rapportés dans le Tableau N° 4.

Les différences entre tuberculeux pulmonaires et insuffisants respiratoires ou malades divers ne sont pas significatives.

En revanche, la différence entre les pourcentages des réactions positives est significative pour cancer pulmonaire et tuberculose pulmonaire, d'une part ($0,01 < p < 0,02$), pour cancer pulmonaire et insuffisant respiratoire, d'autre part ($0,01 < p < 0,02$). La différence n'est pas significative entre cancer pulmonaire et le groupe des "divers", qui comporte des diagnostics non connus, mais avec sans doute des cancers pulmonaires en voie de diagnostic.

TABEAU N° 4

Fréquence des réactions de précipitation
avec l'extrait de tabac,
en fonction du diagnostic clinique chez l'adulte

DIAGNOSTIC CLINIQUE	NOMBRE DE SERUMS	NOMBRE DE CAS +	POURCENT- TAGE
Cancer pulmonaire	133	93	69,9
Tuberculose pulmo- naire	422	246	58,3
Insuffisant respi- ratoire	54	27	50
Divers	256	160	62,5

TABLEAU N° 5

Fréquence des réactions de précipitation
avec l'extrait de tabac,
en fonction du nombre de cigarettes fumées par 24 h.

NOMBRE DE CIGARETTES par 24 h.	NOMBRE DE CAS	CAS +	POURCENTAGE
0	315	136	43,2
1 à 10	148	81	54,8
10 à 20	241	134	55,6
> 20	98	58	59,4

c)- Consommation quotidienne de cigarettes.

Les résultats sont consignés dans le Tableau N° 5.

La fréquence varie selon qu'il s'agit de grands fumeurs (plus de 20 cigarettes par jour), de fumeurs moyens (de 10 à 20 cigarettes), de petits fumeurs (fumant moins de 10 cigarettes) ou de sujets ne fumant pas (sans qu'on puisse affirmer qu'ils n'aient jamais fumé). L'analyse statistique établit, en effet, que les différents groupes examinés ne proviennent pas d'une population homogène.

Le groupe des non-fumeurs diffère très significativement de celui des fumeurs ($p < 0,01$), qu'il s'agisse de grands fumeurs ($p < 0,01$), de fumeurs moyens ($p < 0,01$) ou de petits fumeurs ($0,02 < p < 0,05$).

En revanche, les différents groupes de fumeurs ne diffèrent pas significativement entre eux. Le groupe des petits fumeurs ne diffère pas de celui des fumeurs moyens ($p < 0,5$), ni de celui des grands fumeurs ($p < 0,5$), et celui des fumeurs moyens ne diffère pas de celui des grands fumeurs ($p < 0,5$).

d)- Type de tabac utilisé pour l'expérience.

La fréquence des réactions positives en fonction du type de tabac est consignée dans le Tableau N° 6.

Il apparaît qu'il existe une différence significative entre les tabacs bruns (caporal ordinaire et gauloise) et les tabacs blonds (Clan, Marlboro). En effet, les deux groupes de tabac brun ont donné des résultats voisins l'un de l'autre ($p < 0,5$), de même que les deux groupes de tabac blond (Clan et Marlbo-

ro) ($p = 0,5$). Par contre, il existe une différence significative entre tabac brun et tabac blond ($p < 0,01$).

TABLEAU N° 6

Fréquence des réactions de précipitation
avec l'extrait de tabac,
en fonction du type de tabac utilisé pour l'expérience

TYPE DE TABAC	NOMBRE DE SERUMS	CAS +	POURCENTAGE
Caporal ordi- naire	458	244	53,2
Gauloise	405	245	60
Clan	185	55	29,7
Malboro	340	96	28

2°) - CARACTÉRISATION DE LA RÉACTION DE PRÉCIPITATION.

Dans cette partie de notre travail, nous avons cherché à déterminer les propriétés physico-chimiques des composants de chacun des extraits, et en particulier de l'extrait de tabac, responsable de la réaction de précipitation.

Nous avons, pour cela, utilisé différentes techniques immuno-chimiques et physico-chimiques. Nous rapporterons d'abord les résultats de ces expériences de façon analytique, puis nous les regrouperons de façon synthétique.

1) - T A B A C

A) - ANALYSE DES RESULTATS.

a) - Duchterlony.

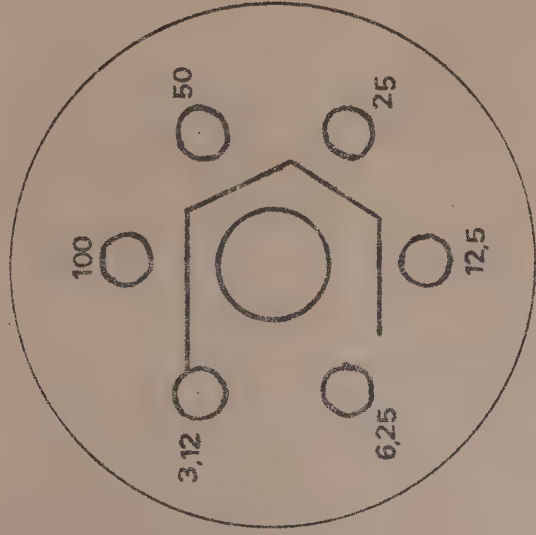
La réaction de précipitation observée semble dépendante du pH et de la concentration de la gélose, les conditions optimales étant l'utilisation d'une gélose de pH 8,2 et de concentration à 2,5 %. On observe, suivant les cas, un ou deux traits de précipitation (Voir FIGURE N° 7).

Le premier des traits de précipitation (précipitation de type A) est visible aux fortes et aux moyennes concentrations de tabac. Cela indique, soit que le composant A est présent dans le tabac à une concentration moyenne ou faible, soit que les précipitines du sérum qui lui correspondent anti-A sont présentes en forte concentration.

Le deuxième des traits de précipitation (précipitation de type B) est visible aux moyennes et faibles concentrations de tabac. Le composant B est

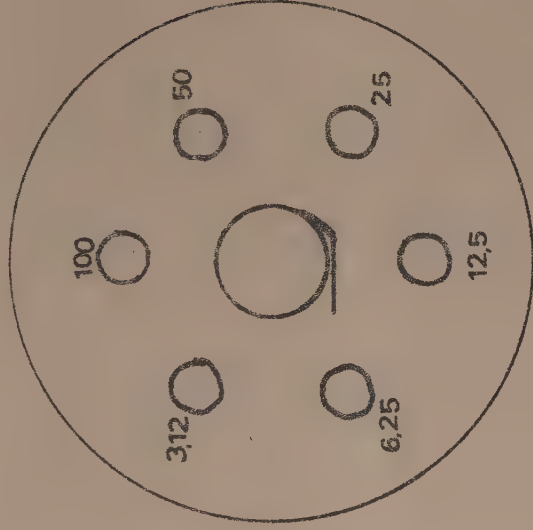
FIGURE N° 7

RELATION DE PRECIPITATION EN GELOSE METHODE D'OUCHTERLONY



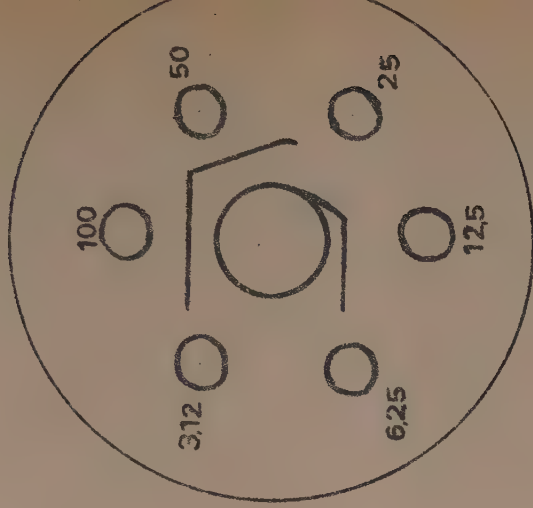
LIGNE DE PRECIPITATION

DE TYPE A



LIGNE DE PRECIPITATION

DE TYPE B



LIGNE DE PRECIPITATION

DE TYPE A ET B

présent dans le tabac à une concentration moyenne ou forte ou bien les précipitines anti-B ou sérum sont présentes en faible concentration.

On peut, dans les deux cas, constater que la distance du trait de précipitation, par rapport au réservoir à sérum, augmente au fur et à mesure que l'on utilise des concentrations plus faibles d'extrait : réaction que l'on observe dans les réactions antigènes - anticorps.

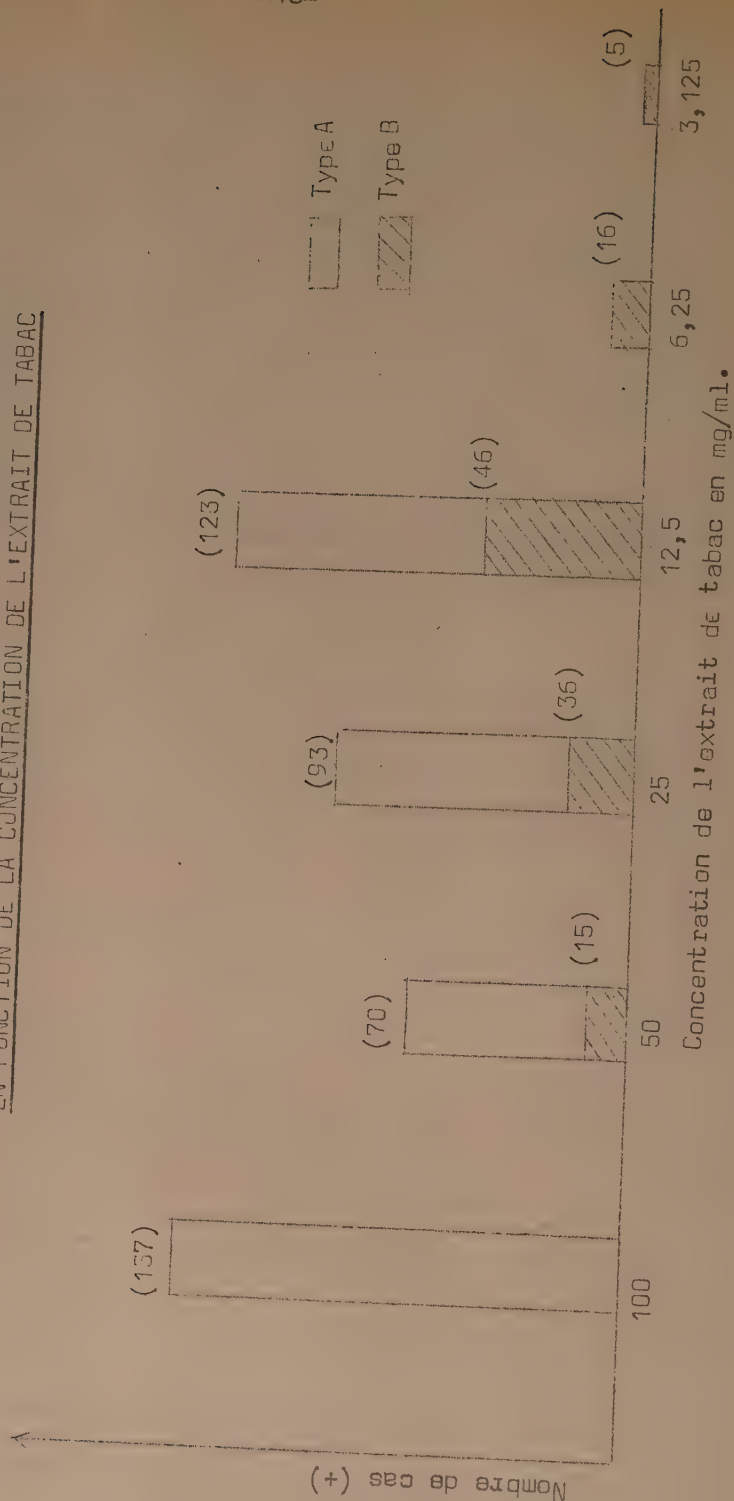
L'intensité du trait varie en fonction de la concentration de tabac. En effet, plus la concentration d'extrait est importante, plus le trait est net et visible et inversement.

Quoi qu'il en soit, on évalue l'intensité de la réaction sérum - extrait, en se fondant sur la dernière dilution d'extrait à laquelle une ligne de précipitation est encore visible. Donc, plus un sérum est riche en facteurs précipitants, plus forte est la dernière dilution avec laquelle il est capable de réagir.

- Le tableau N° 8 résume l'analyse quantitative des réactions positives en fonction de la concentration de tabac.

TABEAU N° 8

DEGRE DE POSITIVITE DE LA REACTION DE PRECIPITATION
EN FONCTION DE LA CONCENTRATION DE L'EXTRAIT DE TABAC



b)- Immuno-électrophorèse.

= Immuno- électrophorèse directe.

En I.E.D., on voit apparaître tantôt un, tantôt deux traits de précipitation. L'un de ces traits est situé près du réservoir de départ de l'antigène et a une mobilité qui correspond à peu près à celle de l' α_2 globuline humaine (composant lent). L'autre a une mobilité rapide, se situant vers le pôle anodique du tracé (composant rapide). Il a une mobilité franchement plus rapide que l'albumine sérique humaine.

= Confrontation entre les résultats en Duchterlony et Immuno-électrophorèse directe.

Sur 175 sérums positifs en Duchterlony et étudiés également en immuno-électrophorèse directe, 149, soit 88,5 %, sont + en I.E.D. et se répartissent ainsi :

- 67 (44,3 %) de type lent,
- 63 (42,9 %) de type rapide,
- 19 (12,8 %) de type double lent et rapide.

Sur 41 sérums ayant un double trait en Duchterlony, 19 seulement (48,8 %) ont montré une réaction de type lent et rapide.

= Immuno-électrophorèse renversée.

Les deux traits sont retrouvés au même niveau dans la zone γ lente des γ_2 -globulines, ce qui suggère que les deux composants réagissent avec les immuno-globulines du sérum humain et, selon toute vraisemblance, avec les IgG.

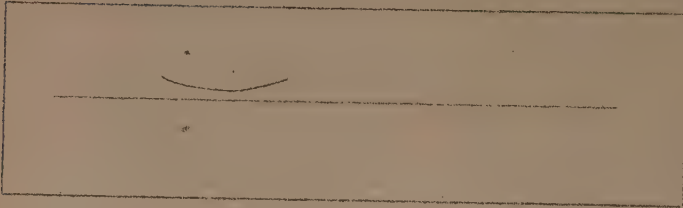
Les schémas des réactions obtenues en I.E.D. et I.E.R. sont consignés dans le tableau N° 9.

IMMUNO-ELECTROPHORESE DIRECTE

T A B A C

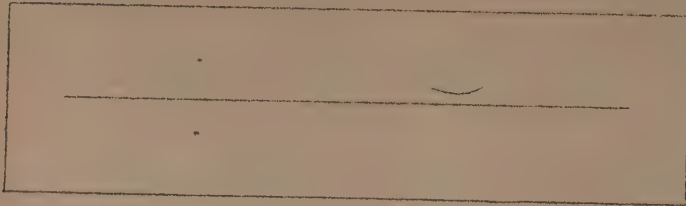
(-)

(+)



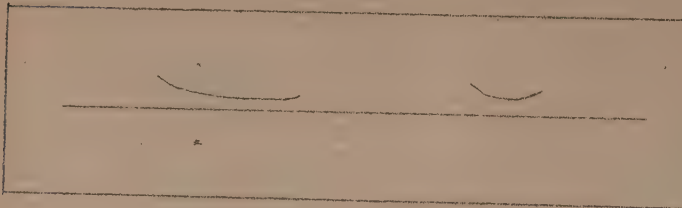
TYPE 1

Lent



TYPE 2

Rapide



TYPE 3

Lent
et
rapide

IMMUNO-ELECTROPHORESE RENVERSEE

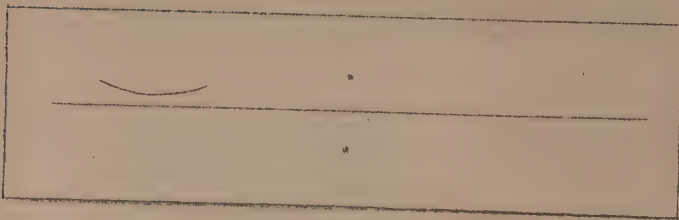


TABLEAU N° 9

c)- Déviatiou du complément.

Sur 117 sérums fortement précipitants en Duchterlony, et éprouvés en réaction de fixation du complément en présence de doses appropriées du tabac (0,4 et 1,6 mg), 6 seulement donneront une réaction positive toujours faible (du 1/4 au 1/10e suivant les sérums), chaque réaction comportant les contrôles nécessaires pour écarter toute cause de fausse positivité.

d)- Courbe de précipitation.

Plusieurs tentatives pour réaliser une courbe de précipitation ont été effectuées avec le tabac à des concentrations variables, allant de 5 mg/ml à 100 mg/ml, diluées dans de l'eau physiologique. On n'a jamais pu obtenir de culot de précipitation, probablement en raison du faible poids moléculaire des composants - précipitants du tabac (Voir plus loin).

D'autres expériences avec un tampon approprié sont à l'étude.

e)- Propriétés physico-chimiques
des composants précipitants du tabac.

= Thermostabilité.

L'extrait dilué de tabac chauffé au bain-marie bouillant pendant 10', 30' et 60' donne des réactions de précipitation semblables à celle d'une même dilution témoin non chauffée.

Il apparaît donc le premier caractère de ce composant qui est la thermostabilité.

= Précipitation par acide trichloracétique et acide perchlorique.

Le tabac, mis en présence d'un ou de l'autre de ces acides, précipite en un culot composé des protéines O.

L'étude du surnageant en Ouchterlony et en I. E.D. d'un sérum positif avec le tabac a montré qu'après cette mise en contact avec soit l'acide trichloracétique à 2,5 %, soit l'acide perchlorique à 3 %, les réactions de double diffusion en gélose et en I.E.D. étaient identiques aux précédentes. Il apparaît que les composants précipitants mis en jeu sont soit des substances de nature non protéinique, soit des substances de faible poids moléculaire.

= Dialyse.

La dialyse est une opération qui est faite au cours de la préparation même de l'extrait, de façon à éliminer les substances non dialysables qui pourraient interférer avec les réactions,

Ceci prouve que l'extrait précipitant est non dialysable.

= Ultrafiltration.

L'ultrafiltration de l'extrait précipité a été faite, soit sur l'extrait entier, soit sur le surnageant de la précipitation de cet extrait par acide trichloracétique ou acide perchlorique. Par ce procédé, les deux composants précipitants avec le sérum humain ont un comportement analogue.

Ils sont arrêtés en totalité par la membrane UM 10 ; ils passent librement à travers la membrane PM 30 et sont paradoxalement retenus par XM 50. On peut donc en déduire qu'ils ont un poids moléculaire supérieur à 10.000, inférieur à 100.000, vraisemblablement aux alentours de 30.000. Leur comportement

avec la membrane XM 50 ne pouvant s'expliquer que par un défaut inhérent à cette membrane.

= Immunisation des lapins.

Les sérums de lapins témoins testés en Ouchterlony n'ont jamais donné de réaction de précipitation.

Les sérums de lapins hyperimmunisés ont, par contre, donné des réactions positives importantes. Ils ont été étudiés par les mêmes méthodes que les sérums humains et les constatations faites sont les suivantes :

- Ouchterlony :

Les réactions d'Ouchterlony montrent quatre traits de précipitation dans tous les cas ; donc il existe dans ces sérums 4 types de précipitines anti-tabac, lesquelles ont été testées en I.E.D..

- I.E.D. :

La mobilité électrophorétique des composants précipitants est variée et on observe généralement un trait de mobilité lente, deux traits de mobilité moyenne et un trait de mobilité rapide.

- Immuno-électrophorèse renversée :

Ces expériences ont montré que c'étaient les composants lents du sérum du lapin, vraisemblablement les immunoglobulines de type IgG qui réagissaient avec l'extrait de tabac.

- Analyse physico-chimique :

Précipitation par acide trichloracétique et perchlorique.

Deux des traits de précipitation observés avec les immunsérums de lapin disparaissent. Ces deux extraits sont également éliminés par ultrafil-

tration de l'extrait sur membrane PM 30. Ce qui indique qu'ils correspondent à 2 composants de poids moléculaire supérieur à 30.000 de nature protéinique vraisemblable.

"En conclusion de ces expériences, il semble qu'il y ait dans l'extrait de tabac quatre antigènes suggérant l'apparition d'anticorps spécifiques chez le lapin ; deux de ces antigènes seulement, et vraisemblablement ceux qui ont le poids moléculaire le plus faible, réagissent avec le sérum humain".

f)- Intradermo-réactions.

Une première étude a été faite en faisant des injections I.D. dans l'avant-bras gauche chez 66 malades et en étudiant leur réaction à 15', 3 à 6 h., 24 h., 48 h. et 72 h.

Il est apparu que seulement chez 6 d'entre eux, il existait à la 48e heure une réaction plus importante que celle constatée à 24 heures, cette réaction se traduisant par un érythème allant de 5 à 20 mm.

Tous les malades ont eu une réaction immédiate à 15' et à 3 et 6 h., expliquée peut-être en partie par le traumatisme de l'injection.

A 72 h., on n'a jamais constaté de réactions érythémateuses.

Une deuxième étude a été faite chez 10 sujets seulement, avec des concentrations de tabac spécialement préparé pour I.D. décroissante allant de 1/100 au 1/10.000.

Les lectures successives ont pu être rapportées sur le Tableau N° 10, en comparant les résultats de la réaction in vivo et in vitro.

Si l'on compare les résultats en calculant le titre moyen des sérums, on obtient, pour la catégorie de sérums positifs en Duchterlony, un titre moyen de 2.250 ; par contre, une positivité moyenne de 400 est calculée pour la catégorie de sérums négatifs en Duchterlony.

TABLEAU N° 10

		Réaction de précipitation (Duchterlony)	
		Positive *	Négative
Intradermo- réaction à l'extrait de tabac	Négative	2	3
	1/100	1	0
	1/1.000	1	2
	1/10.000	1	0

Comparaison entre la réaction de précipitation
avec le tabac donné par un sérum,
et la positivité de l'intradermo-réaction
chez un même sujet.

(*) Réaction cutanée positive si l'érythème persistant est supérieur à 5 mm à 12 h.

2) - T H É

a) - Duchterlony.

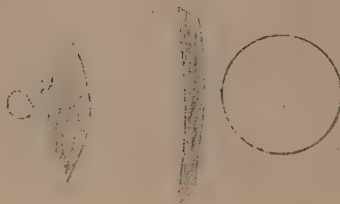
En double diffusion en gélose, on observe une seule variété de réaction positive, comportant deux traits de précipitation.

Le trait le plus proche du réservoir à sérum de cette réaction est représenté par un arc de précipitation typique, mais large et parfois flou. L'autre trait est un arc de précipitation en forme de croissant, entourant en partie le réservoir d'extrait, plus pâle que le précédent.

Le schéma N° 11 rapporte les constatations observées en gélose H (pH 7 ; 1,5 % de gélose).

GELOSE H

Réservoir
d'extrait
de thé



Réservoir
de sérum

SCHEMA N° 11

Schéma d'une réaction de précipitation entre l'extrait de feuille de thé et un sérum humain.

Les conditions optimales de précipitation sont l'inverse de celles observées pour l'extrait de tabac. A savoir que la gélose H (pH 7 1,5 % de gélose) donnait des traits de précipitation nets (Cf. Schéma N° 11) et que, par contre, la gélose E (pH 8,2 et 2,5 % de gélose) préférentielle pour le tabac donnait des résultats très inconstants et peu nets.

Il n'a pas été fait d'étude de la position du trait en fonction de concentrations variables d'extrait de thé.

b)- Immuno-électrophorèse.

= I.E.D.

Elles ont été faites avec la gélose H (pH 7 et 1,5 % de gélose) dans un tampon véronal de pH 7.

Si l'on examine les lames, on constate qu'il y a toujours un seul arc de précipitation assez épais, curviligne et situé très près de la gouttière longitudinale du sérum. Ce trait a une très grande mobilité. Il est plus rapide que le trait rapide du tabac et donc plus rapide que l'albumine humaine.

= I.E.R.

Les expériences ont montré qu'il se formait un trait de précipitation situé dans la zone lente de γ_2 globulines et que donc le composant réactif des sérums semble encore être les gammaglobulines de type IgG.

L'arc de précipitation est plus épais que pour le tabac, légèrement curviligne et très riche en pigment.

c)- Déviatiun du complément.

Sur quelques sérums seulement étudiés et fortement précipitants en Duchterlony, on n'a pas pu mettre en évidence de réactions positives de déviation du complément. Ces résultats négatifs sont peut-être le fait, d'une part du nombre trop faible de sérums étudiés et, d'autre part, du pouvoir anti-complémentaire très élevé de ceux-ci ; constatations que l'on avait faites également dans l'étude de la déviation du complément avec l'extrait de tabac.

d)- Autres propriétés.

Le composant précipitant de l'extrait de thé n'est pas dialysable, il est thermostable, n'est pas précipité par les acides trichloracétique et perchlorique. En ultrafiltration, les résultats obtenus sont identiques à ceux observés avec l'extrait de tabac.

En conclusion, les propriétés sont compatibles avec le faible poids moléculaire du composant précipitant (supérieur à 10.000, voisin de 30.000).

3) - M E N T H E

a)- Duchterlony.

La réaction de double diffusion en gélose, mettant en présence l'extrait de Menthe et un sérum humain, a montré une réaction semblable à celle obtenue avec l'extrait de thé. (Cf. Schéma N° 11).

Cette réaction étant faite en gélose de type H (pH 7, 1,5 % de gélose).

Les études comparatives des résultats obtenus avec la gélose H et la gélose E (pH 8,2, 2,5 % de gélose) ont confirmé que cet extrait végétal précipitait préférentiellement en gélose H.

= Evaluation de la richesse en précipitine des sérums humains.

Des expériences de dilutions successives ont montré que les sérums contenaient des quantités différentes de précipitine anti-thé et anti-menthe : différence que l'on a pu chiffrer approximativement après l'expérience suivante.

En effet, pour une dilution d'extrait de thé à 25 mg/ml et une dilution d'extrait de menthe à 100 mg/ml, on a obtenu une précipitation identique, tant dans son intensité que dans la position du trait, sur une même boîte de gélose. On peut donc dire que le sérum humain, positif à l'égard de ces deux extraits, contient quatre fois plus de précipitine anti-thé que de précipitine anti-menthe.

b) - Immuno-électrophorèse.

= I.E.D. :

Les expériences faites en gélose H et dans un tampon de pH 7 ont démontré qu'il existait un arc de précipitation, assez fin, situé près de la gouttière longitudinale et dont la mobilité est comprise entre les deux arcs de précipitation du tabac, c'est-à-dire est semi-lente.

= I.E.R. :

A montré que les précipitines des sérums intéressés dans ces réactions étaient des γ globulines de type IgG, de mobilité lente, donc de nature γ globulinique vraisemblable.

c)- Courbes de précipitation.

Elles ont été faites selon le protocole du Tableau N° 1.

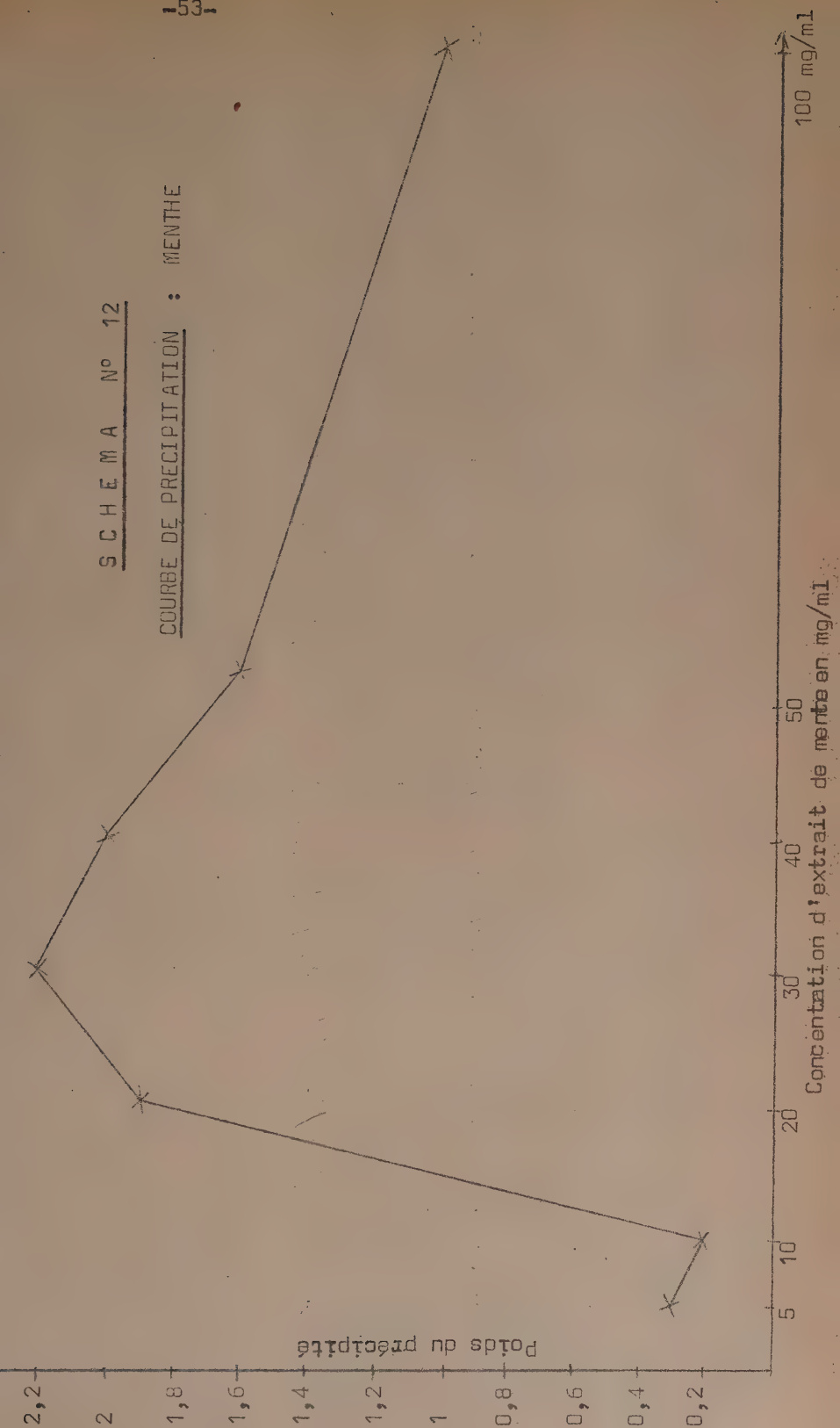
La Figure N° 12 donne des résultats de cette courbe de précipitation. On voit que, lorsqu'on ajoute à un volume fixe de sérum des quantités croissantes d'extract de menthe, on obtient un précipité dont l'importance croît d'abord, pour passer par un maximum et diminuer ensuite progressivement.

La courbe ainsi obtenue a tous les caractères d'une courbe de précipitation de type antigène - anticorps, avec les trois zones d'excès d'anticorps, d'équivalence et d'excès d'antigène.

Elle indique de façon très nette que la réaction de précipitation observée en gélose, entre sérums humains et extrait, est bien une réaction antigène - anticorps et non une réaction de précipitation non spécifique pour laquelle on s'attendrait à observer une courbe en deux parties: la première ascendante et la seconde en plateau.

d)- Les autres expériences ont montré que les caractères physico-chimiques étaient les mêmes que pour les autres extraits précédemment étudiés.

S C H E M A N° 12

COURBE DE PRECIPITATION : MENTHE

4) - FEUILLE DE CAFÉ

a)- Duchterlony

Les réactions ont montré une réaction identique à celle du thé et de la menthe, avec cependant une proportion très importante de sérums positifs, soit 96 %.

Cette proportion est sans doute due à la quantité importante de précipitine anti-feuille de café contenue dans la plupart des sérums humains, mais que l'on n'a pas encore évaluée par rapport à celle du thé ou de la menthe.

La réaction de précipitation est ainsi facilement mise en évidence dans les conditions de nos expériences.

b)- Immuno-électrophorèse.

= I.E. directe :

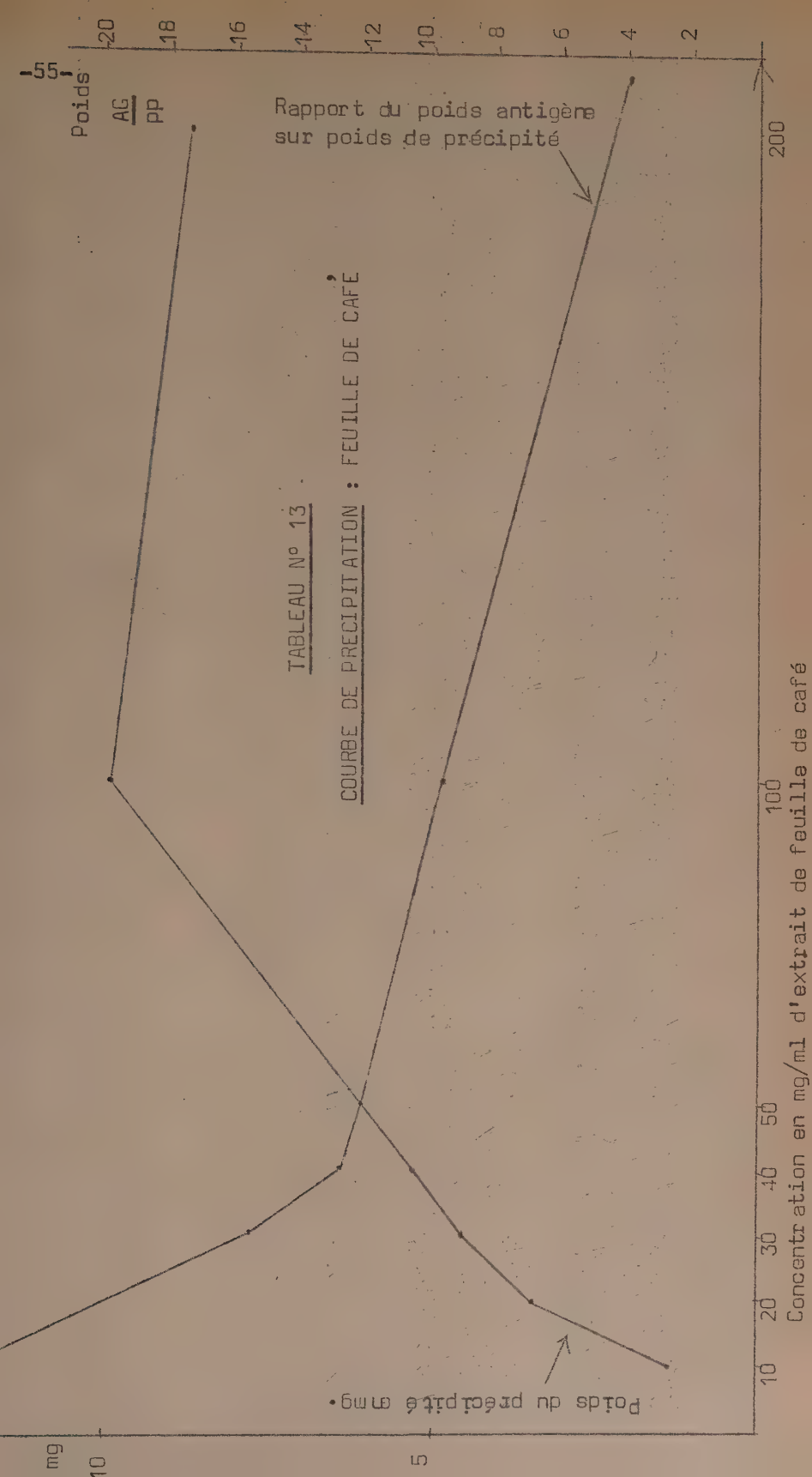
Elle a donné un seul arc de précipitation qui se situe en regard du réservoir d'extrait, à la même place que l'arc lent du tabac, et plus allongé et légèrement plus éloigné de la gouttière de sérum.

= I.E.R. :

L'I.E.R. a montré des résultats identiques aux précédentes expériences du même type.

c)- Courbe de précipitation.

Celle-ci a été réalisée dans les mêmes conditions que la courbe de précipitation faite avec l'extrait de menthe.



La quantité d'extrait ajouté à l'immun-sérum varie entre 10 mg/ml et 200 mg/ml.

Le poids de précipité brun, très foncé, après lavage à l'eau physiologique et séchage à l'étuve est plus important (Schéma N° 13).

Là encore, on peut observer que, pour des quantités croissantes d'antigène, le précipité augmente, passe par un maximum pour 100 mg d'extrait, puis semble décroître lentement ensuite.

Cette courbe a donc l'allure d'une courbe de précipitation Antigène - Anticorps.

Les rapports Poids antigène sur Poids de précipité s'alignent bien sur une hyperbole décroissante.

d) - Autres expériences.

Là encore, on a pu constater que la fraction précipitante de l'extrait, après analyse physico-chimique, avait les mêmes caractères que celle du tabac.

5) - AUTRES VEGETAUX

Nous passerons rapidement sur les autres végétaux, après cette longue énumération, pour confirmer que la verveine, moins étudiée, a donné en Duchterlony un trait de précipitation fin linéaire, souvent peu visible.

Les deux types d'immuno-électrophorèse, directe et renversée, ont montré un arc de précipitation rapide de même mobilité que le thé, et faisant appel aux γ globulines IgG de sérum.

Les autres végétaux, n'ayant pas donné de réaction de précipitation en Ouchterlony, ou seulement deux faibles pour le café vert (Cf. Tableau N° 2), les études n'ont pas été poussées plus loin.

o

o o

3°) - SPECIFICITE DE LA REACTION DE PRECIPITATION.

a)- Réaction d'identité.

En Ouchterlony, il y a fusion complète des arcs de précipitation donnés par les extraits de thé, menthe, feuille de café, lorsqu'on les met en présence d'un sérum précipitant avec les trois extraits à la fois.

Par contre, il n'y a aucune fusion même partielle entre les traits de précipitation donnés par les extraits de feuille de café et de thé, et l'extrait de tabac.

Enfin, il y a une réaction d'identité partielle entre extrait de feuille de menthe et extrait de tabac, pour certains sérums.

Il apparaît donc que l'extrait de feuille de café et l'extrait de feuille de thé ont des caractères immunologiques semblables.

b)- Absorption.

On a pu aussi constater que l'absorption d'un sérum précipitant à la fois avec l'extrait de feuille de café et l'extrait de feuille de thé par l'extrait de thé ou de café, faisait disparaître les deux traits simultanément avec les deux antigènes.

Ceci constitue un argument de plus pour considérer que les substances responsables des réactions de précipitation observées avec le sérum humain ont une structure immunologique identique.

D'autre part, on n'a jamais pu absorber par l'extrait de tabac les précipitines anti-feuille de café et anti-feuille de thé dans le sérum humain.

L'extrait précipitant de la feuille de tabac a une structure immunologique spécifique.

On n'a pas fait, jusqu'à présent, de réaction d'absorption avec l'extrait de feuille de menthe.

DISCUSSION

La mise en évidence d'une réaction de précipitation entre une proportion variable de sérums humains et différentes substances solubles extraites des feuilles de certains végétaux (tabac, thé, ...) pose évidemment plusieurs problèmes.

1°)- Cette réaction intéresse-t-elle ou non les immuno-globulines du sérum humain ? Si elle les intéresse, c'est une raison majeure pour envisager qu'il puisse s'agir d'une réaction antigène-anticorps.

D'autres arguments expérimentaux, en faveur de cette dernière hypothèse : réaction de fixation du complément, courbe de précipitation, doivent être obtenus.

2°)- Si cette réaction de précipitation peut être assimilée à une réaction Antigène - Anticorps, on peut se demander quel est l'antigène induisant la formation de ces anticorps.

S'agit-il d'un antigène présent dans la substance végétale, ou bien cette réaction de précipitation représente-t-elle une réaction croisée, la formation des anticorps étant induite par un antigène de structure immunologique voisine, microbien par exemple.

3°)- Les réactions immunologiques risquent-elles d'être nocives pour l'organisme ?

Les résultats expérimentaux déjà obtenus ne permettent pas de répondre de façon décisive à ces différentes questions.

o o

1°)- Ces réactions de précipitation semblent bien intéresser les γ globulines, comme l'ont démontré les expériences d'I.E.R..

Cependant, toute réaction qui intéresse les γ globulines n'est pas forcément une réaction Antigène - Anticorps. On sait, par exemple, que certains métaux lourds précipitent de façon non spécifique les γ globulines. Cette capacité étant à la base d'un bon nombre de réactions de floculation. On sait, par ailleurs, qu'il existe des réactions interprotéiques non spécifiques intéressant, par exemple, l'albumine sérique ou l'hémoglobine.

Toutes ces réactions, cependant, sont quantitativement très différentes des réactions de précipitation Antigène - Anticorps, en particulier quand on ajoute à une quantité fixe de l'agent précipitant des quantités croissantes de la protéine sérique ; l'importance du précipité augmente d'abord linéairement, puis atteint un maximum auquel elle se maintient (plateau).

Dans le cas d'une réaction Antigène - Anticorps, au contraire, l'addition à un volume fixe d'immunsérum de quantité croissante d'antigène donne une courbe de précipitation caractéristique, dans laquelle, au fur et à mesure que l'on augmente le poids de l'antigène, le précipité augmente (zone d'excès d'anticorps), passe par un maximum (zone d'équivalence), puis diminue (zone d'excès d'antigène). Nous avons obtenu une telle courbe avec l'extrait de menthe et l'extrait de feuille de café. Nous n'avons pas encore pu l'obtenir, cependant, avec les autres extraits.

Ces résultats, bien que partiels, sont une forte présomption, cependant, en faveur de la nature

antigène - anticorps de ces réactions que nous avons observées.

Un autre argument en faveur de la nature anticorps des précipitines présentes dans les sérums positifs est l'évolution des pourcentages des réactions positives dans les premières années de la vie pour le tabac, ces pourcentages étant à la naissance comparables à ceux observés chez l'adulte. Ils diminuent ensuite de façon importante jusqu'à 4 ans, puis remontent progressivement pour atteindre le chiffre habituel.

Cette évolution des pourcentages est comparable à l'évolution du taux d'IgG, pendant les premières années de la vie.

Les anticorps anti-extraits de tabac seraient donc hérités de la mère pendant la vie intra-utérine et produits par l'enfant, au moment de la maturation du système immunologique.

2°)- La nature de l'antigène, induisant l'apparition de ces précipitines, est discutable.

On peut évidemment penser qu'il s'agit de l'antigène présent dans l'extrait végétal et réagissant avec le sérum. On peut se demander cependant comment, par exemple, les antigènes de la feuille de tabac pourraient sensibiliser l'organisme : en effet, quand le sujet fume, la température dans le foyer de cigarettes atteint facilement 800° ; il y a pyrolyse de toutes les molécules de cette feuille qui sont réduites à l'état de composant élémentaire (carbone, hydrogène, hydrocarbure...), mais aucun antigène ne résiste à cette pyrolyse.

La sensibilisation serait plus aisée à expliquer dans le cas des autres substances végétales (thé...) qui pourraient avoir accès au moins aux cellules lymphoïdes de la paroi intestinale et déclencher la formation d'anticorps spécifiques.

Dans ce cas, une question reste posée ; quelle est la nature exacte de ces antigènes extraits des végétaux. S'agit-il d'un composant du végétal lui-même ou s'agit-il d'un contaminant bactérien ou fongique : On sait que la plupart des feuilles de plantes sont contaminées largement par de tels organismes.

Les études que nous avons faites sur les propriétés physiques, chimiques et immunologiques ne permettent pas de trancher le débat.

On sait seulement qu'il s'agit d'anticorps non dialysables, thermostables, non précipitables par acides trichloracétique et perchlorique, de poids moléculaire compris entre 10.000 et 30.000

Certaines expériences récentes nous ont montré une réaction d'identité partielle, voire totale, entre les antigènes présents dans les extraits de tabac et de thé et certains antigènes présents dans un filtrat de culture de staphylocoque doré. (PEPYS en Angleterre a obtenu des résultats analogues).

Les dernières expériences suggéreraient donc qu'il s'agit bien d'une réaction croisée et que l'antigène inducteur de la formation de ces anticorps est d'origine microbienne.

3°)- La signification immuno-pathologique ne peut être qu'envisagée. Pour les raisons que nous avons exposées précédemment, le contact entre la fumée de tabac, d'une part, et les anticorps ou les cellules lymphoïdes sensibilisées réagissant avec les antigènes présents dans l'extrait de feuille de tabac est plus qu'improbable, puisque ces antigènes sont détruits dans le foyer de la cigarette. Par contre, on peut penser que les antigènes extraits des autres feuilles peuvent, après absorption, digestivement réagir avec les anticorps ou les cellules lymphoïdes correspondantes, soit dans le milieu intérieur, soit dans la paroi intestinale elle-

même, puisqu'on a récemment beaucoup insisté sur la production d'immunoglobuline à ce niveau (Immunoglobuline sécrétoire).

En ce sens, les résultats fournis, par exemple par les intra-dermo-réactions avec les différents antigènes, chez des sujets ayant ou non une réaction de précipitation positive, seront d'un grand intérêt.

C O N C L U S I O N S

1°)- Des extraits solubles de feuilles de différents végétaux (tabac, thé, etc...) sont préparés après un dégraissage initial à l'éther sulfurique par une incubation dans la solution phénolique de Coca, puis filtration et lyophilisation.

Après double diffusion en gélose suivant la technique d'Ouchterlony, une réaction de précipitation apparaît entre différents extraits solubles et un pourcentage variable de sérums humains testés.

2°)- 53 % de 285 sérums donne une réaction positive avec le tabac ;

72 % de 285 sérums donne une réaction positive avec le thé ;

52 % de 249 sérums donne une réaction positive avec la menthe ;

96 % de 165 sérums donne une réaction positive avec la feuille de café ;

9,6 % de 240 sérums donne une réaction positive avec la verveine ;

1,2 % de 165 sérums donne une réaction positive avec le grain de café vert.

Aucune réaction positive n'a été décelée avec l'extrait de grain de café torréfié et l'extrait de feuille d'épinard.

3°)- Pour le tabac, on a pu mettre en évidence que différentes données cliniques : âge, consommation journalière de cigarettes, type de tabac utilisé, diagnostic de l'affection pulmonaire du malade, faisaient varier d'une façon significative les résultats des réactions de précipitation.

3 bis)- Notamment, dans les premiers mois de la vie, les variations des pourcentages de réactions positives avec le tabac indiquent qu'à la naissance les précipitines sont d'origine maternelle et qu'elles sont peu à peu produites par le jeune enfant.

Ces variations sont donc comparables à celles observées pour les gamma-globulines, ainsi que pour certains anticorps.

4°)- Les substances présentes dans les extraits végétaux responsables des réactions cutanées sont de poids moléculaire faible (30.000 environ), d'après les expériences d'ultrafiltration séquentielle. Il est vraisemblable qu'elles soient de nature polysaccharidique.

5°)- La nature de cette réaction a été étudiée par les techniques immuno-chimiques habituelles. Ces réactions intéressent les gamma-globulines du sérum; elles ne donnent que très rarement lieu à une fixation positive du complément.

L'étude quantitative de cette précipitation permet, dans certains cas, d'obtenir une courbe de précipitation tout à fait typique, ce qui indique sa nature antigène - anticorps.

VU & PERMIS D'IMPRIMER :

Le Recteur
de l'Académie de Paris,

R. MALLET

Le Doyen de la Faculté
de Médecine,

Pr. DELBARRE

Le Président
de la thèse,

B. KREIS

T A B L E A U D E S P H O T O S

ANTIGÈNE T A B A C

- 1) - Réaction d'Ouchterlony
 - 2) - Immuno-électrophorèse directe :
Réaction de type rapide.
 - 3) - Immuno-électrophorèse directe :
Réaction de type lent et rapide.
 - 4) - Immuno-électrophorèse renversée.
-

MONTENAP

12/19/68

010
07-10

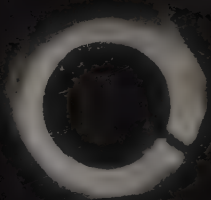


clan

10/1/68

55

07-10



clan

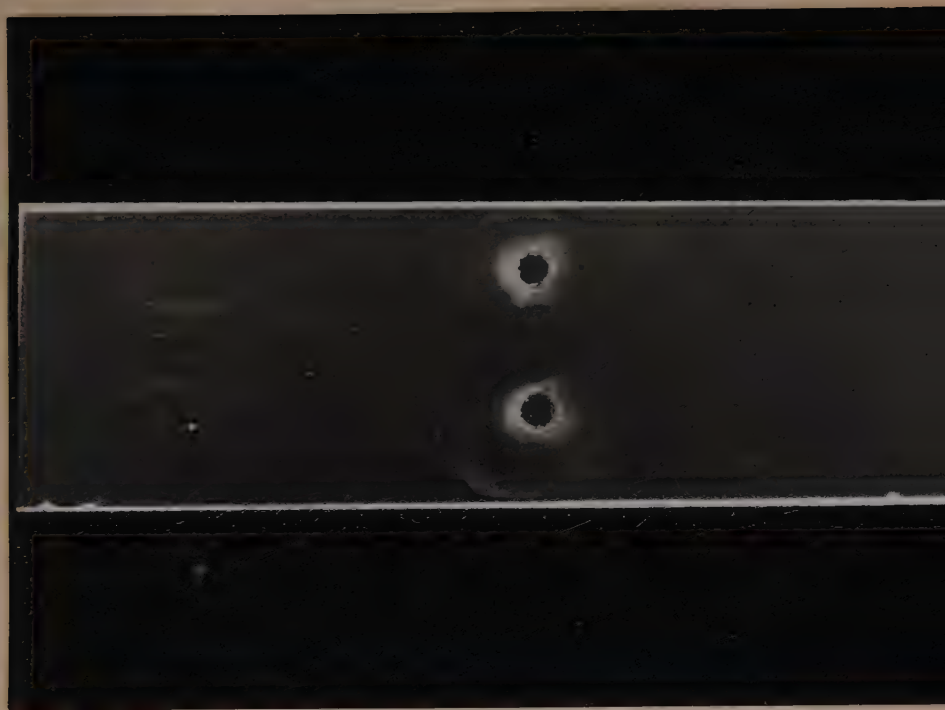
89/10/68

309-244-606



MARCHETTI

3.69.15 200 00-16 24.35 m A



B I B L I O G R A P H I E

- BURREL R.G.- Auto-antibodies in pulmonary disease.-
Amer. Rev. Resp. Dis. 1963, 87, 389.
- CHU Y.M., PARLETT R.C., WRIGHT Jr. G.L.- A preliminary investigation of some immunologic aspects of tobacco use.- Amer. Rev. Resp. Dis. 1970, 102.
- HARKAVY J.- Tobacco allergy in cardio-vascular diseases.- Am. Allergy, 1968, 26, p. 447-459.
- KAGEN L.J.- Reaction between human serum albumin and several hemoglobins.- Proc. Soc. Exp. Biol. and Med. 1965, 119, p. 985-988.
- MAC GREA M.G., HESTON J.F., WOOD H.F. and SULLIVAN J.E.- Milk precipitins.- J.A.M.A. 1968, 42, 698-702.
- METZGAR R.S. and GRACE J.I.- Agar precipitation reactions between human serum albumin and hemoglobin in human tissue extract.- J. Immunol. 1961, 86, p. 578-683.
- PARISH W.E., BARRET A.M., COOMBS R.A., GUNTHER M. and CAMPS F.E.- Hypersensitivity to milk and sudden death in infancy.- Lancet, 1960, 11, 1106.
- PEPYS J.- Pulmonary hypersensitivity disease due to inhaled organic antigens.- Brit. Med. J., 1966, 42, p. 698-702.

SILVETTE H., LARSON P.S. and HAAG H.B. - Immunological aspects of tobacco and smoking.- Am. J. Med. Sc. 1957, 234, p. 561-569.

TOMASI T.B.- A precipitation reaction between human serum and a soluble tissue component.- J. Immunol. 1961, 86, p. 427-430.

TURNER-WARWICK M. and DONIACH D.- An immunological study of auto-antibodies in interstitial pulmonary fibrosis.- Brit. Med. J. 1965, 1, 886-891.

YEAGER Jr. H.- Alveollars cells ; depressant effect of cigarette smoke on protein synthesis.- Soc. Exp. Biol. Med. 1969, 131, p. 247-250.

ZUSMANN B.M.- Atopic symptoms caused by tobacco hypersensitivity.- Southern Med. J., 1968, 61, p. 1175-1179.

